

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

SZOLGÁLATI TALÁLMÁNY

172951

Bejelentés napja: 1976. V. 25.

(GO-1341)

Közzététel napja: 1978. VII. 28.

Megjelent: 1979. VII. 31.

Nemzetközi osztályozás:

C 07 H 15/22,
C 07 D 215/02,
A 61 K 31/71,
31/47,
45/06.

Feltalálók:

dr. Koczka István vegyész 20%, dr. Orbán Ernő gyógyszerész 15%,
Rétháti Csilla gyógyszerész 10%, dr. Láng Tibor vegyészmérnök 10%,
Harsányi Ilona biológus 10%, dr. Borvendég János orvos 8%, dr. Gyimesi
József vegyész 7%, dr. Bérty János vegyész 7%, dr. Bódló Gáborné
vegyész 7%, dr. Szűcs Ottóné gyógyszerész 6%, Budapest

Tulajdonos:

Gyógyszerkutató Intézet,
Budapest

Eljárás masztitisz kezelésében hatásos gyógyszerkészítmény előállítására

2

A találmány tárgya eljárás masztitisz kezelésében hatásos gyógyszerkészítmény előállítására.

Számos betegség kezelése azzal magyarázható, hogy kórokozó mikroorganizmusok a környezettel – funkciójuk miatt – kapcsolatban álló testüregekben, járatokban megtelepednek és ott gyulladást okoznak: ilyenek a légutak, húgyutak, tápcsatorna, de ezek között szerepel az emlő is a tejelválasztás helye, aminek fertőzőes gyulladását masztitisznek nevezzük (Walter-Heilmeyer: Antibiotika Fibel 3, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1969. 812 oldal). A továbbiakban a tehenek masztitiszéről beszélve, ennek a megbetegedésnek gazdasági (tejtermelés csökkenése) és közegészségügyi (fertőződések forrása) kihatásai ismertek és a tejtermelés nagyüzemi technológiájának kialakulásával fokozódtak.

A tögy-gyulladás gyógyítása ma abban áll, hogy a fejes ideiglenes felfüggesztése mellett a fertőző baktériumok elpusztítása, illetve szaporodásuk visszaszorítása céljából különböző antibakteriális hatású gyógyszereket juttatnak a tejjáratokba. A kezelésre használt gyógyszerek jellegzetessége, hogy azok elsősorban a Gram-pozitív baktériumok elpusztítására alkalmasak (a Gram-pozitív Streptococcus uberis-t, illetve Staphylococcus aureus törzseket tartják leggyakoribb kórokozóknak), de újabban ún. széles spektrumú, azaz Gram-pozitív és -negatív törzsekre egyaránt hatékony vegyületeket is alkalmaznak, esetleg az előbbiekkal kombináltan, mert a masztitiszes tehenekből a baktériumok, sőt

gombák változatos tagjait is kitenyésztették (Dr. Ványi András: Magyar Állatorvosok Lapja, 1973. nov., 619. oldal). A felhasznált gyógyszerek ismert, főleg az emberi megbetegedésekben is használatos antibiotikumok, amelyeket bomlékonyságuk miatt különböző, de főleg nem vizes kikészítési formákban hoznak forgalomba: Magyar készítmények:

Masticur: (EGYT)

10 Penicillin-G procain
Streptomycin
2-szulfanilamido-4-metil-tiazol
Oleum helianti ad

15 Neomasticur (EGYT)

Kloramfenikol
Penicillin-G procain
Oleum paraffini ad

20 Külföldi készítmények:

Streptopen (Glaxo)

Penicillin-G procain
Dihydrostreptomycin

25

Solumast (Pfizer)

Penicillin-G procain
Cloxacillin
Neomycin
Hexaklorofen

30

Best Available Cop

Best Available Copy

Nestrepina (Spofa)

Neomycin
Dihydrostreptomycin

Tetra-Delto (Upjohn)

Penicillin-G
Dihydrostreptomycin
Neomycin
Novobiocin
Prednizolon

Altapen (Norwich Pharmacal)

Penicillin-G procain
Furantadon

Az eddig ismert módszerek legfőbb hátránya, hogy a mikroorganizmusok szelektálódnak, így rezisztenssé válnak a kezelésre használt gyógyszerek hatásával szemben, azaz a gyógyszerek elvesztik korábbi hatásosságukat ezekre a mikroorganizmusokra. Ez a veszély különösen nagy az antibiotikumok helyi alkalmazása esetén. A tehén tőgyében esetlegesen kialakult rezisztens populáció fokozott közegészségügyi veszélyforrás. Jelenleg a masztitisz

embergyógyászatban is alkalmazott gyógyszerekkel történő kezelése során kialakult rezisztens baktériumokkal emberek is fertőződhetnek (tej), amely fertőzés leküzdésére már csak új gyógyszer használatát kelti ki.

A találmány célja olyan készítmény előállítása, amely a fenti körülmények figyelembevételével is eredményes a masztitisz kezelésében.

- Azt találtuk, hogy önmagában gyenge hatású 8-oxi-kinolinnak és apramycinnek kombinációja a masztitisz kezelésében színergetikus hatású, azaz a vizsgált mikroorganizmusokra nem várt nagy hatásságot mutat és alkalmazása előnyös. Meglepő módon a fenti két anyag együttes alkalmazása esetén hatékonyságuk felülmúlta a hasonló célra alkalmazott ismert készítmények aktivitását, azaz rövid idő alatt sterilizte a masztitist okozó mikroorganizmusokkal mesterségesen fertőzött tejet, amint az az alábbi táblázatba foglalt kísérleti adatokból kitűnik:

Különböző hatóanyagok és ezek kombinációinak hatása a masztitist okozó mikroorganizmusok kitenyésztettségére mesterségesen fertőzött tejből.

Vizsgált hatóanyag jele	A baktériumok szaporodásának mértéke, ha a kioltás						
	4	25	48	75	99	123	147
óra múlva történt							
Kontroll	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1	45	0	0	0	0	0	0
2	45	0	0	0	0	0	0
3	35	0	0	0	0	0	0
4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	49	0	0	0	0	0	0
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9	0	0	0	0	0	0	0
10	50	0	0	0	0	0	0

Jelmagyarázat:

- 0 = baktérium szaporodást nem figyeltünk meg,
+++ = a baktériumok akadálytalanul szaporodtak,
++ és + = a baktérium szaporodás csökkent
45 = a kioltás után 24 óra múlva fejlődött telepek száma.

A vizsgált hatóanyagok összetétele

1.	apramycin-szulfát (nebramicin-2)	564 mg
	8-oxi-kinolin-szulfát-monohidrát	266 mg
	1,6-di-(N-p.-klórifenil-diguanido)-hexán-diglukonát	0,44 ml
	(KLÓRHEXIDIN)	

víz ad 80 g

2.	apramycin-szulfát 8-oxi-kinolin-szulfát-monohidrát	564 mg 266 mg víz ad 80 g
3.	apramicin-szulfát 1,6-di-(N-p.-klórphenil-diguanido)-hexán-diglukonát	564 mg 0,44 ml (20%-os oldat) víz ad 80 g
4.	8-oxi-kinolin-szulfát-monohidrát 1,6-di-(N-p.-klórphenil-diguanido)-hexán-diglukonát	266 mg 0,44 ml (20%-os oldat) víz ad 80 g
5.	apramycin-szulfát	564 mg víz ad 80 g
6.	8-oxi-kinolin-szulfát-monohidrát	266 mg víz ad 80 g
7.	1,6-di-(N-p.-klórphenil-diguanido)-hexán-diglukonát	0,44 ml (20%-os oldat) víz ad 80 g
8.	neomycin-szulfát	564 mg víz ad 80 g
9.	8-oxi-kinolin-szulfát-monohidrát apramycin-szulfát 1,6-di-(N-p.-klórphenil-diguanido)-hexán-diglukonát Δ^1-4 -pregnadien-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion (PREDNIZOLON) segédanyagok,	266 mg 564 mg 0,44 ml (20%-os oldat) 15,0 mg víz ad 80 g
10.	2,4-diamino-5-(3',4',5'-trimetoxibenzil)-pirimidin (TRIMETHOPRIM) N'-(5-metil-3-izoxazolil)-szulfanilamid (SULFAMETOXASOL) neomycin-szulfát 1,6-di-(N-p.-klórphenil-diguanido)-hexán-diglukonát Δ^1-4 -pregnadien-11 β , 17 α , 21-triol-3,20-dion segédanyagok,	200 mg 200 mg 100 mg 0,44 ml (20%-os oldat) 15 mg víz ad 80 g

Módszer: Forralt tehéntejet fertőztünk (a tej térfogatára számított) 10% mennyiségű 18 órán át 37 C°-on tenyésztett masztitiszes tejből izolált E. Coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa és Staphylococcus aureus tenyészetek azonos térfogatú keverékével. A kezdeti élő csíraszám 10⁷–10⁸ sejt/ml tej. Az így fertőzött tejet 37 C°-on tartottuk és a táblázatban jelzett időpontokban 1 kacsnyi tejet kioltottunk Mueller-Hinton agar-agar táptalajra, majd a 37 C°-on 24 óra múlva fejlődött telepeket megszámoltuk. Ezt tünteti fel a táblázat.

Ez a hatás szinergizmussal magyarázható, amit az alábbi kísérleti eredményekből is kitűnik.

Módszer: Az apramycin és 8-oxi-kinolin keverékének hatását in vitro vizsgáltuk. A kísérletekben olyan mikroorganizmusokat használtunk, amelyek a tehenek masztitiszét okozzák, ezek között olyanokat is, amelyek rezisztensek az ismert és masztitisz gyógyításra gyakran használt antibiotikumok hatásával szemben. Ugy jártunk el, hogy a szokásos módon minden mikroorganizmus esetén meghatároztuk külön-külön a két hatóanyag legkisebb még

hatásos koncentrációját (MIC) majd azt, hogy ezt a koncentrációt mennyire befolyásolja (csökkenti) a másik vegyület egymagában hatástalan töménysége. Szinergizmus esetén pl. Klebsiella törzs vizsgálata folyamán azt találtuk, hogy egyedül 100 γ /ml 8-oxi-kinolin, vagy 25 γ /ml apramycin gátolta a mikroorganizmus szaporodását, de pl. már 25 γ /ml 8-oxi-kinolin is hatásos volt 0,2 γ /ml apramycin jelenlétében. Hasonló megfigyelést tehettünk a következő törzsek esetén:

55 Klebsiella (állatpatogén) törzs esetén

MIC érték γ /ml	
8-oxi-kinolin	apramycin
100	0
50	0,2
25	0,7
0	25,0

Pseudomonas pyocyanea (állatpatogén)
törzs esetén

MIC érték γ /ml	
8-oxi-kinolin	apramycin
250,0	0
15,0	3,1
0	6,2

E. Coli (állatpatogén) törzs esetén

MIC érték γ /ml	
8-oxi-kinolin	apramycin
100	0
50	0,3
25	1,5
0	12,5

Staphylococcus aureus (állatpatogén)
törzs esetén

MIC érték γ /ml	
8-oxi-kinolin	apramycin
1,25	0
0,6	0,03
0,15	0,25
0	1,0

A fentiek alapján a találmány eljárás masztitisz kezelésére szolgáló készítmény előállítására, amely abban áll, hogy sejt-membránra ható 8-oxi-kinolint vagy valamely sóját és apramycint vagy valamely sóját (Nebramycin II. faktort) külön külön feloldunk, az oldatokat elegyítjük úgy, hogy a hatóanyagok súlyaránya 1:1 és 1:2 közé essék és ehhez az oldathoz különböző adalékanyagokat előnyösen prednizolon (Δ^1-4 -pregnadién-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dion) és klórhexidin (1,6-di-(N-p-klór-fenil-guanido-hexán) relatíve alacsony töménységű oldatát adjuk. A találmány szerinti eljárás egy előnyös kivitelezési módja szerint úgy járunk el, hogy a 8-oxi-kinolin vagy sójának vizes oldatát elegyítjük az apramycin vagy sójának vizes oldatával, a prednizolont és klórhexidint alkoholos szorboxetén-oleát oldatba visszük, majd a két oldatot (a vizes és alkoholos oldatokat) erős keverés mellett elegyítjük.

A találmány szerinti eljárással előállított készítmény az alábbi főbb előnyökkel jár:

1. Hatásos a masztitisz olyan eseteiben amikor a kórokozó mikroorganizmusok érzékenyek vagy rezisztensek az embergyógyászatban általában alkalmazott antibiotikumok hatására.

2. Nem tartalmaz embergyógyászati célból eddig alkalmazott hatóanyag(ka)-t, tehát rezisztens kórokozók kialakulása szempontjából kisebb veszélyt jelent.

3. Csökkenti a gyulladást.

4. Vizes oldat, amelynek alkalmazása egyszerű és megfelelő kikészítési mód mellett stabil hatóanyag készíthető belőle.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példákon szemléltetjük:

1. példa

266 mg 8-oxi-kinolin-szulfát-monohidrárt feloldunk 6,5 g vízben, 564 mg apramycin-szulfátot feloldunk 10 ml vízben. A két oldatot összeöntjük. A keletkezett oldat jele I. Ezután 15 mg prednizolont 1,0 g etanolban oldunk és a feloldódása után 3 g szorboxetén-oleáttal elegyítjük és jól összekeverjük. A homogenizálás elérése után klórhexidin-glükonát 20%-os (súly/térfogat) vizes oldatából 88 mg adunk a tenzid elegyhez és jól összekeverjük. Ezt II. oldatnak nevezzük. Állandó keverés mellett a II-es oldathoz adjuk az I-es oldatot. Erős keverés mellett az egyesített oldatok pH-ját N/10 NaOH oldattal pH = 4,5-re állítjuk (kb. 7,5 ml lúg szükséges). Az oldat súlyát desztillált vízzel 80 g-ra egészítjük ki.

2. példa

200 mg 8-oxi-kinolint (bázis) feloldunk 10 ml N/10 kénsavban esetleg 40°C-ra történő melegítéssel, 300 mg apramycint (bázis) feloldunk 20 ml N/10 kénsavban. A két oldatot elegyítjük és az így nyert tiszta oldatot I-el jelöljük. 15 mg prednizolont 1,0 g etanolban oldjuk és a feloldódás után 3 g szorboxetén-oleátot adunk hozzá és jól összekeverjük. A homogenitás elérése után klórhexidin-glükonát 20%-os (súly/térfogat) vizes oldatából 88 mg-ot adunk a tenzid elegyhez és jól összekeverjük. Ezt II. oldatnak nevezzük. Ezután állandó keverés mellett a II-es oldathoz adjuk az I-es oldatot. Erős keverés mellett az egyesített oldatok pH-ját N/10 NaOH oldattal pH = 4,5-re állítjuk (kb. 10 ml N/10 lúg oldat szükséges). Az oldat súlyát desztillált vízzel 80 g-ra egészítjük ki.

Szabadalmi igénypont:

Eljárás masztitisz kezelésében hatásos gyógyszerkészítmény előállítására, azzal jellemezve, hogy sejtmembránra ható 8-oxi-kinolinnak vagy valamely sójának, előnyösen szulfátsójának oldatát apramycin vagy valamely apramycin só, előnyösen apramycin-szulfát oldatával a hatóanyagra nézve 1:1 és 1:2 közötti, előnyösen 1:1,5 súlyarányban összekeverjük, — mimellett a hatóanyagok

töménysége 8-oxi-kinolin szulfátra 33 mg/ml, apramycin szulfátra 33 mg/ml — 66 mg/ml között, előnyösen 50 mg/ml legyen — és kívánt esetben az

így kapott oldathoz adalékanyagokat, előnyösen a prednizolon és/vagy a klórhexidin valamely sójának oldatát adjuk.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.